

A262

## Fat emulsion for intravenous injection

Patent Number:  US4280996

Publication date: 1981-07-28

Inventor(s): YOKOYAMA KAZUMASA;; TSUDA YOSHIO;; OKAMOTO HIROYUKI

Applicant(s): GREEN CROSS CORP

Requested Patent:  DE2938807

Application Number: US19790075684 19790913

Priority Number (s): JP19790055476 19790507

IPC Classification: A61K31/20; A61K31/56; A61K31/685; B01J13/00

EC Classification: A61K9/00N6, A61K31/66T5, A61K35/78

Equivalents: AU518087, AU5780980,  BE885844, CA1142089,  CH643735,  FI70137B,  
 FI70137C, FI801336,  FR2455888,  GB2050799, HK66685,  IT1146936,  
 JP55147228, JP60030652B, NL189899B,  NL189899C,  NL8005797,  
 SU1311604

### Abstract

A stable fat emulsion having low side effects, which is suitable as nutritive infusion fluid for intravenous injection, is provided. The emulsion contains 5-50 (W/V) % of soybean oil, yolk phospholipids in a weight ratio to the soybean oil of 1/4-1/25, 0.01-0.30 (W/V) % of a fatty acid or salt thereof having 12-20 carbon atoms and the balance of water.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

51

Int. Cl. 3:

A 61 K 37/22

19 BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES



PATENTAMT

A 262

DE 29 38 807 A 1

10

## Offenlegungsschrift

29 38 807

21

Aktenzeichen:

P 29 38 807.8-41

22

Anmeldetag:

25. 9. 79

23

Offenlegungstag:

13. 11. 80

30

Unionspriorität:

50 51 52

7. 5. 79 Japan P 55476-79

51

Bezeichnung:

Fettemulsion und ihre Verwendung

70

Anmelder:

The Green Cross Corp., Osaka (Japan)

71

Vertreter:

Vossius, V., Dipl.-Chem. Dr. rer.nat.; Vossius, D., Dipl.-Chem.;  
Tauchner, P., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.;  
Heunemann, D., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat.; Pat.-Anwälte, 8000 München

72

Erfinder:

Okamoto, Hiroyuki, Akashi; Tsuda, Yoshio, Kyoto; Yokoyama, Kazumasa,  
Toyonaka (Japan)

Prüfungsantrag gem. § 28b PatG ist gestellt

DE 29 38 807 A 1

VOSSIUS · VOSSIUS · HILTL · TAUCHNER · HEUNEMANN  
PATENTANWÄLTE

2938807

SIEBERTSTRASSE 4 · 8000 MÜNCHEN 86 · PHONE: (089) 474078  
CABLE: BENZOLPATENT MÜNCHEN · TELEX 5-29453 VOPAT D

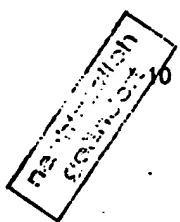
5 u.Z.: P 311 (PT/H)  
Case: A 4018-02

25 SEP 1979

THE GREEN CROSS CORPORATION  
Osaka, Japan

emulsion  
"Fettlösung und ihre Verwendung"

Priorität: 7. Mai 1979, Japan, Nr. 55 476/79



15

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Fettulsion, enthaltend

(a) 5 bis 50% (G/V) Sojabohnenöl,

20 (b) Eigelbphospholipide in einem Gewichtsverhältnis von  
1/4 bis 1/25, bezogen auf das Sojabohnenöl,

(c) 0,01 bis 0,30% (G/V) einer Fettsäure mit 12 bis 20  
Kohlenstoffatomen oder ihr Salz,

(d) 0,005 bis 0,50% (G/V) Cholesterin oder ein Choleste-  
rinderivat und

(e) Rest Wasser.

2. Fettulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß der durchschnittliche Teilchendurchmesser der emul-  
30 gierten Teilchen höchstens  $0,1 \mu$  beträgt.

3. Fettulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß der Durchmesser der emulgierten Teilchen höchstens  
1  $\mu$  beträgt.

35

L 030046/0589 R

- 1 4. Fettémulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß der Gehalt an Fettsäure oder ihres Salzes 0,04 bis  
0,07% (G/V) beträgt.
- 5 5. Fettémulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß als Fettsäure Stearinsäure, Ölsäure, Linolsäure,  
Palmitinsäure oder Linolensäure enthalten ist.
- 10 6. Fettémulsion nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß sie infolge Zusatz von Glycerin oder Glucose isoto-  
nisch ist.
- 15 7. Nährlösung zur intravenösen Verabfolgung, bestehend aus  
der Fettémulsion nach Anspruch 1 bis 6.
8. Verwendung der Fettémulsionen nach Anspruch 1 bis 6 bei  
der Herstellung von Nährinfusionen.

20

25

30

35

5 Die Erfindung betrifft den in den Ansprüchen gekennzeichneten Gegenstand.

Bei der Herstellung üblicher Fett emulsionen werden Emulgatoren, wie nichtionische oberflächenaktive Verbindungen, Eigelb-  
10 Phospholipide und Sojabohnen-Phospholipide eingesetzt. Naturgemäß hängen die Eigenschaften einer Emulsion von der Art des eingesetzten Emulgators oder der Emulgierhilfe ab. Bei Emulsionen, die Nährinfusionen darstellen, ist es wünschenswert, daß sie rasch nach ihrer Verabfolgung als Energiequelle in  
15 vivo verbraucht werden. Damit intravenös verabfolgtes Fett rasch durch Verbrennung im Körper abgebaut werden kann, ist es notwendig, daß das Fett nicht über eine längere Zeit im Blut verbleibt und daß es im Rahmen des Stoffwechsels ohne Ablagerung und Anreicherung in Geweben oder in Organen,  
20 wie Leber oder Milz, abgebaut wird.

Aus den vorstehend genannten Gründen stellte sich die Aufgabe, Emulsionen zu entwickeln, bei denen die Teilchen gleichzeitig fein und ausreichend stabil sind. Die Lösung  
25 dieser Aufgabe beruht auf dem überraschenden Befund, daß es durch Zugabe bestimmter Emulgatoren und Emulgierhilfen in bestimmten Zusammensetzungen zu einer üblichen Fett emulsion zur intravenösen Verabfolgung, die Sojabohnenöl, Wasser und Eigelb-Phospholipide enthält, und durch anschließendes Homogenisieren möglich ist, Fett emulsionen zu schaffen, die, verglichen mit bekannten Emulsionen, weitaus feinere Teilchen enthalten und gleichzeitig stabiler sind und sich zudem rascher als Energiequelle in vivo verwenden lassen.  
30 Diese Vorteile werden durch die erfindungsgemäßigen Fett emulsionen bewirkt.  
35

1 Der Ausdruck (G/V) für die Prozentwerte kennzeichnet das Gewicht einer gelösten oder dispergierten Phase pro Volumeneinheit der Emulsion.

5 Das in den erfindungsgemäßen Fett emulsionen eingesetzte Sojabohnenöl stellt ein hochgereinigtes Sojabohnenöl dar, das beispielsweise durch Wasserdampfdestillation aus raffiniertem Sojabohnenöl (H.J. Lips, J. Am. Oil Chemist. Soc., 27, 422-423 (1950)) hergestellt wird. Die Reinheit dieses 10 hochgereinigten Sojabohnenöls beträgt mindestens 99,9%, und zwar als Triglycerid-, Diglycerid- und Monoglycerid- Gehalt.

Das Gewichtsverhältnis von Sojabohnenöl zu Wasser unterliegt keiner besonderen Beschränkung und beträgt im allgemeinen 15 0,05 bis 0,43, vorzugsweise 0,05 bis 0,2.

Die in den erfindungsgemäßen Fett emulsionen enthaltenen Eigelb-Phospholipide können mittels üblicher Fraktionierverfahren mit einem organischen Lösungsmittel wie folgt hergestellt werden: Eine Lösung von 130 g rohen Eigelb-Phospholipiden in einem gekühlten Gemisch von 200 ml n-Hexan und 100 ml Aceton wird nach und nach mit 1170 ml kaltem Aceton versetzt, wobei gerührt wird. Anschließend werden ungelöste Bestandteile abfiltriert und erneut in einem kalten Gemisch 20 von 260 ml n-Hexan und 130 ml Aceton gelöst. Die Lösung wird gerührt und mit 1170 ml kaltem Aceton versetzt. Die ungelösten Bestandteile werden abfiltriert und unter verminderter Druck vom Lösungsmittel befreit. Man erhält 60 g einer getrockneten Verbindung, die 70 bis 80% Phosphatidylcholin, 12 bis 25% Phosphatidyläthanolamin sowie weitere 25 Phospholipide, wie Phosphatidylinosit, Phosphatidylserin, Sphingomyelin und Lycophosphatidylcholin, enthält (D.J. Hanahan et al., J. Biol. Chem., 192, 623-628 (1951)).

30 35 Die in den erfindungsgemäßen Fett emulsionen enthaltenen Fettsäuren sind vorzugsweise freie Fettsäuren mit 12 bis

L 030046/0589

ORIGINAL INSPECTED

- 1 20 Kohlenstoffatomen, die in Arzneimitteln Anwendung finden, oder deren pharmazeutisch verträgliche Salze. Spezielle Beispiele sind Stearinsäure, Ölsäure, Linolsäure, Palmitinsäure und Linolensäure sowie deren Kalium- oder Natriumsalze.
- 5 Die Endkonzentration in den erfindungsgemäßen Emulsionen beträgt 0,01 bis 0,30%, vorzugsweise 0,04 bis 0,07% (G/V).

*technisch  
gefunden*

Als Cholesterinderivate in den erfindungsgemäßen Fettgemulsionen können solche eingesetzt werden, die sich bei der medizinischen Behandlung intravenös verabfolgen lassen; vorzugsweise wird Cholesterin eingesetzt. Die Endkonzentration in den erfindungsgemäßen Emulsionen beträgt 0,05 bis 0,50% (G/V).  
*0,05*

- 15 Bei der Herstellung der erfindungsgemäßen Emulsionen kann das Homogenisieren in üblicher Weise erfolgen, z.B. durch Ultraschall oder Druckzerstäubung. Beispielsweise können die erfindungsgemäßen Emulsionen mittels Durchleiten des flüssigen Gemisches (zehnmal) durch einen Manton-Gaulin-Homogenisierapparat unter Anwendung eines Drucks von 500 kg/cm<sup>2</sup> hergestellt werden (R.P. Geyer et al., J.Am.Oil Chem. Soc., 32, 365-370 (1955)).
- 20

Die erfindungsgemäßen Emulsionen können weiterhin Glycerin oder Glucose enthalten, damit sie isotonisch werden.

Verglichen mit den bekannten Fettgemulsionen, bei denen Sojabohnen-Phospholipide, nichtionische oberflächenaktive Mittel und Eigelb-Phospholipide als Emulgatoren verwendet werden, weisen die erfindungsgemäßen intravenös injizierbaren Fettgemulsionen eine verbesserte physiko-chemische Stabilität auf und verursachen eine geringere Anzahl von Nebenwirkungen.

Die erfindungsgemäßen Fettgemulsionen enthalten dispergierte Ölropfchen mit einem durchschnittlichen Teilchendurchmesser von 0,1 µ oder weniger. Keines der dispergierten

- 1 Teilchen in den erfindungsgemäßen Fettémulsionen weist einen Teilchendurchmesser von mehr als  $1\mu$  auf, wobei der Zustand der feinen Dispersion während einer langen Zeitdauer unverändert bleibt.
- 5 Die LD<sub>50</sub>-Werte bei Ratten betragen bei einer 10prozentigen Fettémulsion gemäß der Erfindung mindestens 200 ml pro kg Körpergewicht und bei einer 20prozentigen Fettémulsion gemäß der Erfindung mindestens 150 ml pro kg Körpergewicht. Bei 10 normaler Zutropfgeschwindigkeit wird keine Hämolyse beobachtet.

Anweisung zur Verabfolgung der erfindungsgemäßen Fettémulsion: Eine Dosis von 300 bis 1000 ml einer 10prozentigen Fettémulsion gemäß der Erfindung wird einmal pro Tag durch intravenöses Zutropfen verabfolgt. Die Dosis wird dem Körpergewicht und den Symptomen angepaßt. Die Menge des intravenös verabfolgten Fettes beträgt höchstens 2 g (20 ml der obigen Emulsion) pro Tag pro kg Körpergewicht.

20 Die Beispiele und die Vergleichsversuche erläutern die Erfindung.

---

B e i s p i e l 1

- 25 20,0 g gereinigtes Sojabohnenöl werden mit 2,4 g gereinigten Eigelb-Phospholipiden, 0,05 g Natriumoleat und 0,04 g Cholesterin versetzt. Das Gemisch wird zur Bildung einer Lösung auf 65 bis 75°C erhitzt. Die entstandene Lösung wird mit 5,0 g Glycerin und 173 ml eines zur Injektion geeigneten destillierten Wassers, das auf 65 bis 75°C erwärmt wurde, versetzt. Das entstandene Gemisch wird mittels eines Homogenisermischers grob emulgiert. Die entstandene Emulsion wird anschließend durch 10faches Durchleiten durch einen Manton-Gaulin-Homogenisierapparat fein emulgiert.
- 30 35 Hierbei beträgt der Druck in der ersten Stufe  $120 \text{ kg/cm}^2$  und der Gesamtdruck beträgt  $500 \text{ kg/cm}^2$ . Man erhält eine homo-

1 genisi rte und sehr fein dispergierte Fett emulsion.

B e i s p i e l 2

40,0 g gereinigtes Sojabohnenöl werden mit 2,4 g gereinigten  
5 Eigelb-Phospholipiden, 0,05 g Natriumoleat und 0,04 g Cho-  
lesterin versetzt. Das Gemisch wird zur Bildung einer Lösung  
auf 65 bis 75°C erwärmt. Die entstandene Lösung wird mit  
10 5,0 g Glycerin und 173 ml eines zur Injektion geeigneten  
destillierten Wassers, das auf 65 bis 75°C erwärmt wurde,  
versetzt. Das entstandene Gemisch wird mit einem Homogeni-  
siermischer grob emulgiert. Die entstandene Emulsion wird  
durch zehnfaches Hindurchleiten durch einen Manton-Gaulin-  
Homogenisierapparat fein emulgiert. Hierbei beträgt der  
Druck in der ersten Stufe  $120 \text{ kg}/\text{cm}^2$  und der Gesamtdruck be-  
15 trägt  $500 \text{ kg}/\text{cm}^2$ . Man erhält eine einheitliche und feindis-  
pergierte Fett emulsion.

Vergleichsversuch 1

Der Versuch dient dem Vergleich der Beziehung zwischen der  
20 Stabilität der Emulsion und der Zusammensetzung des Emulga-  
tors. Die Emulsionsproben werden gemäß Beispiel 1 herge-  
stellt, wobei vier verschiedene Emulgatorsysteme eingesetzt  
werden: Gereinigte Eigelb-Phospholipide allein, eine Kombi-  
nation von gereinigten Eigelb-Phospholipiden und Choleste-  
25 rin, eine Kombination von gereinigten Eigelb-Phospholipiden  
und einer freien Fettsäure oder eine (erfindungsgemäß)  
Kombination von gereinigten Eigelb-Phospholipiden, Choleste-  
rin und einer freien Fettsäure.

30 Die Teilchengröße jeder einzelnen Emulsion wird mit Hilfe  
eines Elektronenmikroskops unmittelbar nach der Zubereitung  
gemessen, sodann nach einer 24monatigen Lagerung bei 4°C.  
Das verwendete Elektronenmikroskop ist ein Modell JEM-Ts7  
der Firma Nippon Denshi Co.

35 Der durchschnittliche Teilchendurchmesser wird durch Auswer-

1 tung der aufgenommenen Photographie mit Hilfe der Carbon-  
Replika-T chnik bestimmt.  
Es wurde festgestellt, daß die erfundungsgemäße Fettémulsion,  
die gereinigte Eigelb-Phospholipide, eine freie Fettsäure  
5 sowie Cholesterin enthält, eine einheitliche Beschaffenheit  
aufweist und feine Teilchen enthält, die ohne merkliche Ver-  
schlechterung über eine lange Zeitdauer hindurch stabil blei-  
ben. Deshalb zeichnet sich die erfundungsgemäße Fettémulsion,  
verglichen mit den weiteren drei Fettémulsionen aus der nach-  
10 stehenden Tabelle I, durch die besten Eigenschaften aus.

15

20

25

30

35

030046/0589

2938807

2938807

- 9 -

Tabelle I  
Teilchendurchmesser der Emulsion und Lagerfähigkeit

Probe-Nr.	Emulgator	Teilchendurchmesser in der Fettulsion ( $\mu$ )	Teilchendurchmesser in der Fettulsion nach 24 Monaten Lagerung bei 4°C ( $\mu$ )
I	Gereinigte Eigelb-Phospholipide	0,15 ± 0,03	0,25 ± 0,06
II	Gereinigte Eigelb-Phospholipide und Cholesterin	0,13 ± 0,03	0,20 ± 0,03
III	Gereinigte Eigelb-Phospholipide und Fettsäure	0,09 ± 0,02	0,13 ± 0,03
IV	Gereinigte Eigelb-Phospholipide, Cholesterin und Fettsäure (gemäß der Erfindung)	0,08 ± 0,02	0,11 ± 0,03

030046/0589

1 Vergleichsversuch 2

Gemäß Vergleichsversuch 1 werden vier Fett emulsionen hergestellt, jedoch enthalten die Emulsionen ein Sojabohnenöl mit einer  $^{14}\text{C}$  markierten Linolsäure.

5

An vier Gruppen von männlichen Wistar-Ratten (150 g Körpergewicht pro Ratte), denen zuvor 16 Stunden keine Nahrung zugeführt wurde, werden durch die Schwanzvenen jeweils die vorstehend erwähnten Emulsionen in einer Dosis von 20 ml 10 pro kg Körpergewicht verabfolgt (d.h. 2 g Sojabohnenöl pro kg Körpergewicht). Nach erfolgter Injektion wird die ausgeatmete Luft jeder Ratte kontinuierlich über 6 Stunden gesammelt und ihre Radioaktivität gemessen, um einen Vergleich der einzelnen Emulsionen mit Fett als Energiequelle hinsichtlich der Geschwindigkeit des Fettstoffwechsels zu erhalten. 15 Nach Durchführung des vorstehenden Versuches werden die Ratten getötet und es wird eine Laparotomie zur Bestimmung der verbliebenen Radioaktivität im Plasma, der Leber, Milz und Lunge durchgeführt.

20

In einem weiteren Versuchsansatz werden die vorstehenden Emulsionen in gleicher Weise, wie vorstehend beschrieben, Ratten in die Schwanzvenen injiziert. Aus dem Augenhintergrund jeder Ratte werden nach 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120 25 und 180 Minuten nach erfolgter Injektion Blutproben entnommen. Der neutrale Fettgehalt des durch Zentrifugieren abgetrennten Plasmas wird nach der Acetylaceton-Methode gemessen, um die Halbwertszeit ( $T_{\frac{1}{2}}$ ) des neutralen Fetts im Plasma zu bestimmen. Die Ergebnisse des Vergleichsversuchs 2 sind in 30 der nachstehenden Tabelle II zusammengefaßt.

35

2938807

- 11 -

Tabelle II

Probe-Nr.	Halbwertszeit ( $T_{\frac{1}{2}}$ ) im Plasma (Min.)	Nachgewiesene Radioaktivität in der während 6 Stunden nach Verabfolgung ausgemetnen Luft (% bezogen auf eingesetzte Dosis)	Verteilung der Radioaktivität, 6 Stunden nach der Verabfolgung			
			Plasma	Leber	Milz	Lunge
I	18,5	20,1 ± 2,5*	0,4 ± 0,05*	46,1 ± 6,4*	5,2 ± 1,0*	2,3 ± 0,1
II	28,3	25,3 ± 2,1	1,3 ± 0,2	31,5 ± 2,8	2,4 ± 0,4	1,8 ± 0,2
III	34,4	27,6 ± 3,1	1,6 ± 0,2	30,1 ± 5,8	1,8 ± 0,3	1,5 ± 0,1
IV	35,2	29,7 ± 2,6	1,5 ± 0,1	33,6 ± 4,9	2,2 ± 0,5	1,8 ± 0,03

Anmerkung: \*Merklicher Unterschied gegenüber den Werten von Probe IV.

030046/0589

1 Wie die vorstehenden Ergebnisse zeigen, enthalten die erfundungsgemäßen Fettemulsionen, in denen eine freie Fettsäur und Cholesterin als Emulgierhilfen, zusammen mit Eigelb-  
5 Phospholipiden enthalten sind, verglichen mit Fettemulsionen, in denen geringe Eigelb-Phospholipide allein als Emulgato-  
ren enthalten sind, weitaus feiner dispergierte Teilchen,  
die während einer langen Zeitdauer einheitlich bleiben und  
die rascher in vivo als Energiequelle verwendet werden kön-  
nen. Daraus ist zu ersehen, daß die erfundungsgemäßem Emul-  
10 sionen diesbezüglich den bekannten Fettemulsionen überlegen sind.

15

20

25

30

35

L 030046/0588

589